

京都大学	博士（医学）	氏 名	野中 太一郎
論文題目	Carboxy-terminal domain of AID required for its mRNA complex formation <i>in vivo</i> (AID が細胞内でメッセンジャーRNA と複合体を形成するためにはそのカルボキシル末端領域が必要である)		
(論文内容の要旨)			
Activation-induced cytidine deaminase (AID)は抗体遺伝子のクラススイッチ組換えや体細胞突然変異にとって必須の酵素である。この酵素が発見された当初は、その分子構造が既知の RNA 編集酵素である APOBEC1 と類似していたことから、RNA 編集酵素であろうと考えられた。この考えを支持する様に、AID は、核細胞質間の往復運動や、その活性発揮のために新規タンパク質合成が必要である等、RNA 編集酵素が持つ多くの特質を兼ね備えている。しかしながら、クラススイッチ組換えや体細胞突然変異に関わる酵素を生み出すために、AID が特定のメッセンジャーRNA を認識し、編集するかどうかは未だ示されていない。 そこで、本研究において、生きている細胞に紫外線を照射する UV クロスリンク法及び、ビオチン化オリゴデオキシチミジンとストレプトアビジンビーズを組み合わせたポリアデニル化メッセンジャーRNA 捕獲法を利用して、AID タンパク質が細胞内でメッセンジャーRNA と結合しているかどうかの検討を行った。 その結果、マウス B リンパ腫細胞株 CH12 にレトロウイルスで外来性に導入されたヒト AID タンパク質及び、ヒトバーキットリンパ腫細胞株 BL2 の内在性の AID タンパク質の両方がメッセンジャーRNA と結合している事が判明した。また、同じ手法を用いて、AID と同じ APOBEC family に属する APOBEC1 や APOBEC3G タンパク質についても検討した結果、同様にメッセンジャーRNA と結合している事が判明した。しかし、AID も含めてこれらの APOBEC family タンパク質とメッセンジャーRNA との結合は、他のタンパク質を介した間接的な結合である事も明らかとなった。この事は、APOBEC1 が RNA を編集する際、ACF (APOBEC1 complementation factor) というメッセンジャーRNA を認識する相補的タンパク質が必要であることから、既に予想されていた。さらに、AID 変異体を用いた解析の結果、クラススイッチ組換えの活性発揮に必須の領域である AID のカルボキシル末端領域が、メッセンジャーRNA との結合に必要である事が分かった。 これらの結果より、AID はそのカルボキシル末端領域を介して細胞内でメッセンジャーRNA と間接的に結合しており、そのカルボキシル末端領域と相互作用する ACF 様の相補的タンパク質がクラススイッチ組換えにとって必要である可能性が示唆された。			

（論文審査の結果の要旨） 抗体遺伝子のクラススイッチ組換えや体細胞突然変異にとって必須の核酸編集酵素である AID が、細胞内で DNA と RNA のどちらを基質とするかは未だ論争中である。当学位授与申請者は AID が細胞内で mRNA との結合性を有するかどうかを、UV クロスリンク法及びポリアデニル化 mRNA 捕獲法を用いて検証した。その結果、B リンパ腫細胞株において、外来性及び内在性の AID タンパク質が mRNA と結合している事が判明した。また、同じ手法を用いて、AID と同じ APOBEC ファミリーに属する APOBEC1 や APOBEC3G タンパク質についても検討した結果、同様に mRNA と結合している事が判明した。しかし、AID も含めてこれらの APOBEC ファミリータンパク質と mRNA との結合は、他のタンパク質を介した間接的な結合である事も明らかとなった。さらに、AID 変異体を用いた解析の結果、クラススイッチ組換えの活性に必須の領域である AID の C 末端領域が、mRNA との結合に必要である事が分かった。これらの結果より、AID はその C 末端領域を介して細胞内で mRNA と間接的に結合しており、その C 末端領域と相互作用する相補的タンパク質がクラススイッチ組換えにとって必要である可能性が示唆された。 以上の研究は、AID が RNA 編集酵素であるとする仮説を支持する結果となり、クラススイッチ組換えのメカニズムの解明に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成21年2月26日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			